

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 577.127:616.379-008.64

В. В. Конопельнюк, К. Р. Середницька, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**ВПЛИВ m-ХЛОРОФЕНІЛПІПЕРАЗИНУ НА ВМІСТ СЕРОТОНІНУ
В МОЗКУ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**

Досліджено вплив m-хлорофенілпіперазину (mCPP) на вміст серотоніну в мозку та сироватці крові щурів за умов експериментального цукрового діабету (ЦД) 2 типу. При введенні mCPP, на фоні зростання вмісту серотоніну в мозку, встановлено значне зниження вмісту глюкози в крові. Отримані результати свідчать про можливу нормалізацію вуглеводного обміну в щурів з ЦД 2 типу та прямий вплив серотонінергічної системи на інсулярний апарат.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серотонін, глюкоза, m-хлорофенілпіперазин, цукровий діабет 2 типу.

ВСТУП. Серотонін – біологічно активна речовина, яка характеризується широким діапазоном впливу на організм [15, 18]. Виконуючи функції нейротрансмітера і тканинного гормону, серотонін залучений до процесів звуження судин, скорочення гладкої мускулатури, формування больових відчуттів, контролю сну; відіграє важливу роль у регуляції емоційної, статевої і харчової поведінки. Відомо, що серотонін бере участь у діяльності центральної нервової системи, залучений до енергетичного обміну та підвищує рівень глюкози [9, 10]. Тому викликає певний інтерес аналіз вмісту серотоніну в мозку та крові щурів за розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу, оскільки одним з основних порушень при даному патологічному стані є збільшення вмісту глюкози в крові хворих.

Цукровий діабет (ЦД) 2 типу – хронічне ендокринне захворювання, основними патогенетичними факторами якого є гіперглікемія, зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну та порушення функціонування β-клітин підшлункової залози. Даний патологічний стан характеризується насамперед збільшенням вмісту глюкози і вільних жирних кислот у периферичній крові хворих та супроводжується появою інших метаболічних порушень, таких, як ожиріння, дисліпідемія, збільшення в плазмі кількості маркерів запалення, гіперкоагуляція з пригніченою фібринолітичною активністю, судинні пошкодження, гіпертензія. Актуальність проблеми ЦД 2 типу зумовлена значною поширеністю захворювання, а також

© В. В. Конопельнюк, К. Р. Середницька, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко, 2011.

тим, що він є базою для розвитку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідності та смертності. Сьогодні відбувається пошук нових антидіабетичних препаратів, серед яких не останнє місце можуть зайняти модулятори функціонування серотонінергічної системи.

Мета-хлорофенілпіперазин (mCPP) – хімічна сполука, похідне тразодону та нефазодону, що впливає на регуляцію функціонування центральної нервової системи, яка пов'язана із серотоніном [14]. Мета-хлорофенілпіперазин як агоніст серотонінергічних 5-HT₁, 5-HT_{1A}, 5-HT₂ та 5-HT_{2C}, антагоніст 5-HT_{2B}, 5-HT₃ рецепторів широко використовують у дослідженнях нервових розладів, пов'язаних з порушеннями серотонінергічної системи організму [4, 6, 8, 13]. Також він підвищує вивільнення серотоніну, залежного від транспортера серотоніну [2, 5, 11, 12].

Метою роботи було дослідити зміни вмісту серотоніну в мозку та сироватці крові щурів з ЦД 2 типу при введенні m-хлорофенілпіперазину протягом 14 діб.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих нелінійних щурах обох статей. Експериментальний ЦД 2 типу викликали згідно з методом [7]. Для підтвердження розвитку стану інсулінорезистентності у дослідних тварин визначали чутливість периферичних тканин до інсуліну за допомогою інсуліно-глюкозотолерантного тесту [17], проведеного з власними модифікаціями.

Розчин mCPP вводили інтраперитонеально з розрахунку 1,25 мг на 1 кг маси тіла про-

тягом 7 та 14 днів. Контрольну групу складали щури, яким протягом 7 та 14 днів інтраперитонеально в тому ж об'ємі вводили 0,9 % розчин хлориду натрію, який використовували для розведення mCPP. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Масу тіла щурів та кількість спожитої ними їжі визначали щоденно протягом 7 та 14 днів у той самий час.

Тварин забивали шляхом декапітації. Мозок щура видаляли з основи черепа і поміщали у 0,9 % розчин хлориду натрію, після чого заморожували при температурі мінус 80 °С.

Головний мозок розморожували при кімнатній температурі, після чого зважували та гомогенізували в 0,4 М HClO_4 у співвідношенні 1:5. Гомогенат витримували 60 хв при 4 °С, потім центрифугували 5 хв при 800 g при 0 °С. Тканинний екстракт наносили на колонку з КМ-сефарозою, попередньо урівноважену 0,01 М Na-фосфатним буфером, pH 6,2. Елюцію проводили при кімнатній температурі 0,03 М Na-фосфатним буфером, pH 6,2. До 1 мл елюату додавали 0,3 мл 12 н HCl. Одразу після додавання визначали вміст серотоніну на спектрофотометрі (хвиля збудження – 295 нм, хвиля люмінесценції – 550 нм) [1]. Контрольна проба містила 1 мл дистильованої води та 0,3 мл 12 н HCl. Вміст серотоніну в мозку перераховували на 1 г тканини, в крові – на 1 мг білка. Концентрацію білка в зразках визначали за методом Бредфорд [3].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм "MS Excel XP" та "OriginPro 7,5".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Розвиток ЦД 2 типу супроводжується тривалими порушеннями вуглеводного, ліпідного та білкового обмінів, що призводить до патологічних змін у функціонуванні різних органів і систем. Оскільки одним з основних порушень при ЦД 2 типу є збільшення вмісту глюкози в крові хворих, а серотонін підвищує рівень глюкози та бере участь у регуляції харчової поведінки, цікаво було простежити за зміною маси тіла тварин та кількістю спожитої ними їжі.

В результаті проведених досліджень нами встановлено, що маса тіла щурів контрольної групи і тварин з експериментальним ЦД 2 типу не змінювалась протягом 14 днів (рис. 1). Проте при введенні mCPP на 7 добу вона знижувалась до $(85 \pm 1,11) \%$ ($p \leq 0,05$ порівняно з 1-ю добою) від початкових значень, повертаючись до норми на 14 добу.

Кількість корму, яку тварини з'їдали щоденно, не змінювалась протягом 14 днів у контрольній групі та групі щурів з експерименталь-

ним ЦД 2 типу. Спостерігалось підвищення кількості спожитої їжі у контрольній групі та групі щурів з експериментальним ЦД 2 типу в період з 2 до 10 доби введення препарату (рис. 2). На 14 добу кількість спожитого корму поверталась до 1-ї доби. В результаті проведених досліджень встановлено зниження маси тіла та підвищення кількості спожитої їжі в щурів при введенні препарату, що може бути причиною опосередкованого впливу mCPP на енергетичні витрати організму.

У ході досліджень нами показано, що у дослідних тварин розвиток експериментального ЦД 2 типу супроводжувався появою гіперглікемії натще. У групі щурів з моделлю ЦД 2 типу вміст глюкози в крові натще на 54 % перевищував значення контрольної групи тварин. Збільшення вмісту глюкози в крові може бути викликане різними причинами, а саме: зниженням транспорту глюкози в клітини інсуліночутливих тканин, порушенням внутрішньоклітинного метаболізму глюкози, зменшенням

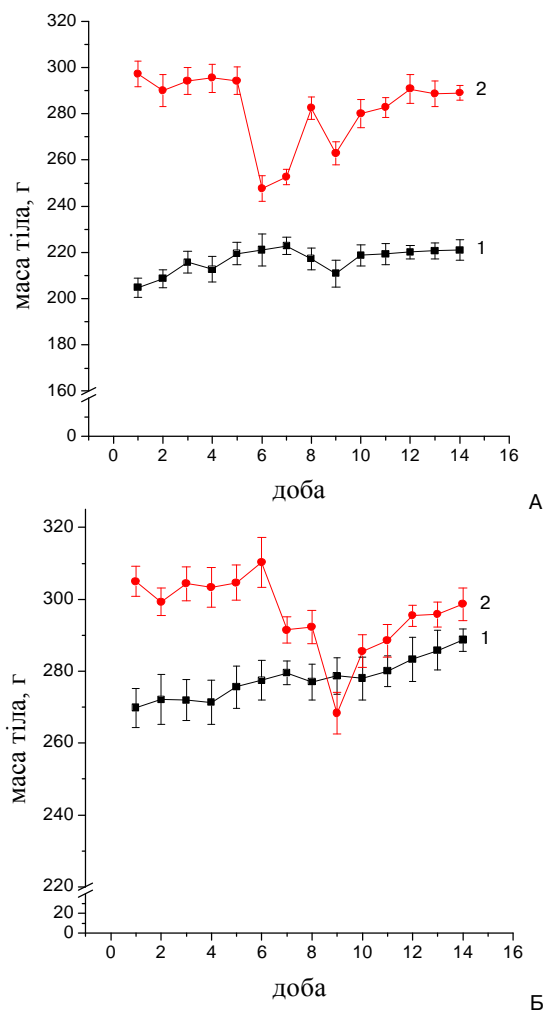


Рис. 1. Маса тіла щурів контрольної групи (А) і тварин з експериментальним ЦД 2 типу (Б): 1 – без введення m-хлорофенілпіперазину; 2 – при введенні m-хлорофенілпіперазину.

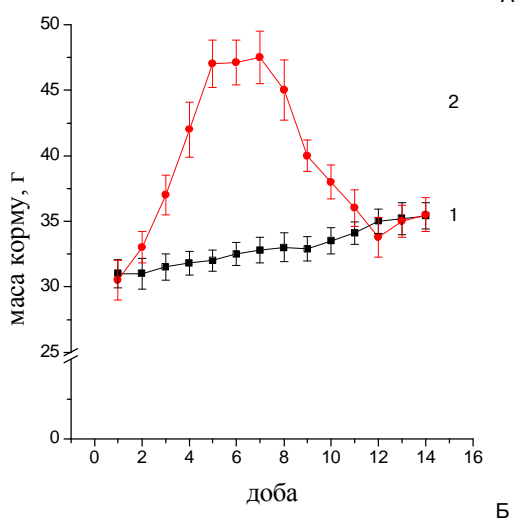
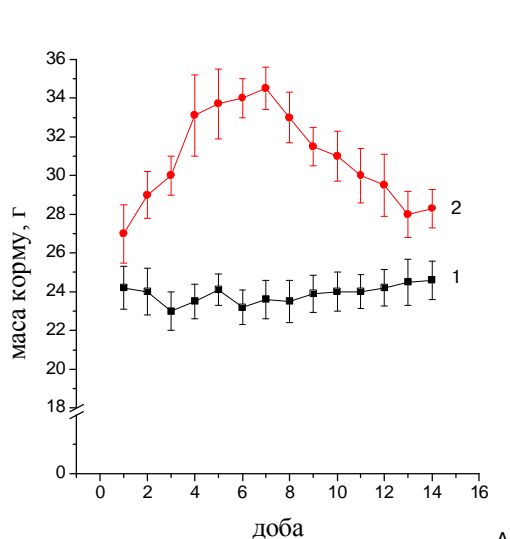


Рис. 2. Споживання їжі у контрольній групі щурів (А) та групі тварин з експериментальним ЦД 2 типу (Б): 1 – без введення *m*-хлорофенілпіперазину; 2 – при введенні *m*-хлорофенілпіперазину.

її утилізації, зниженням синтезу та підвищенням розпаду глікогену в печінці [17].

У контрольній групі тварин, яким вводили *m*СРР, вміст глюкози знижувався на 7 добу до 70 % (рис. 3, А). Фіксували значне зменшення вмісту глюкози до 62 % на 7 добу в тварин з експериментальною моделлю ЦД 2 типу (рис. 3, Б), яким вводили *m*СРР, яке майже не змінювалось на 14 добу.

Вивчення вмісту серотоніну показало різнонаправлені його зміни в тканинах мозку та сироватці крові експериментальних тварин порівняно з контрольною групою (рис. 4). Встановлено підвищення вмісту серотоніну в сироватці крові щурів з експериментальним ЦД 2 типу в 1,6 раза порівняно з показниками контрольної групи. При введенні *m*СРР вміст серотоніну в сироватці крові збільшувався в 1,4 раза на 7 добу. В групі тварин з ЦД 2 типу не спостерігалось достовірних змін вмісту се-

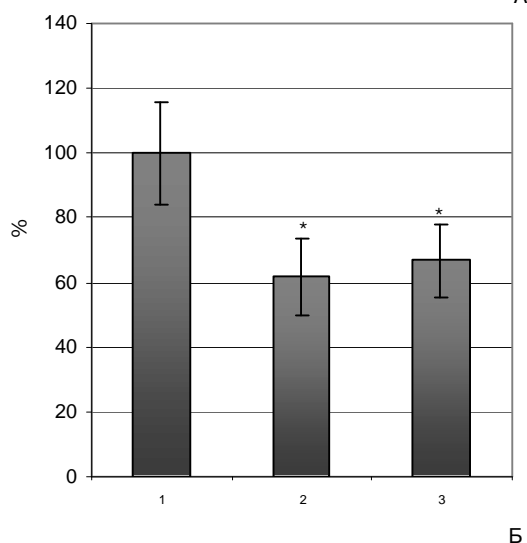
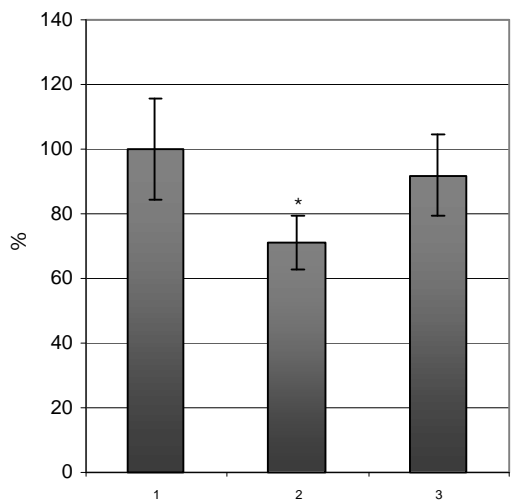


Рис. 3. Зміни глюкози в крові натще (контроль – 100 %) у контрольній групі тварин (А) та групі щурів з експериментальною моделлю ЦД 2 типу (Б): 1 – до введення *m*СРР; 2 – після 7 днів введення *m*СРР; 3 – після 14 днів введення *m*СРР.

Примітка. * – $p \leq 0,05$ порівняно з даними контрольної групи.

ротоніну в сироватці крові протягом усього дослідження.

Встановлено зниження вмісту серотоніну в тканині мозку діабетичних тварин у 2 рази порівняно з контрольною групою. Введення *m*СРР щурам з експериментальним ЦД 2 типу призводило до підвищення досліджуваного показника в 1,7 раза на 7 добу.

Можливою причиною такого дисбалансу може бути порушення функціонування ентерохромафінних клітин шлунково-кишкового тракту (ШКТ), які вивільняють серотонін у відповідь на надходження їжі до порожнини шлунка. У діабетичних щурів показано морфологічні зміни ентерохромафінних клітин ШКТ, зокрема виникнення великих серотонінпозитивних клітин у місцях слизової, чого не спо-

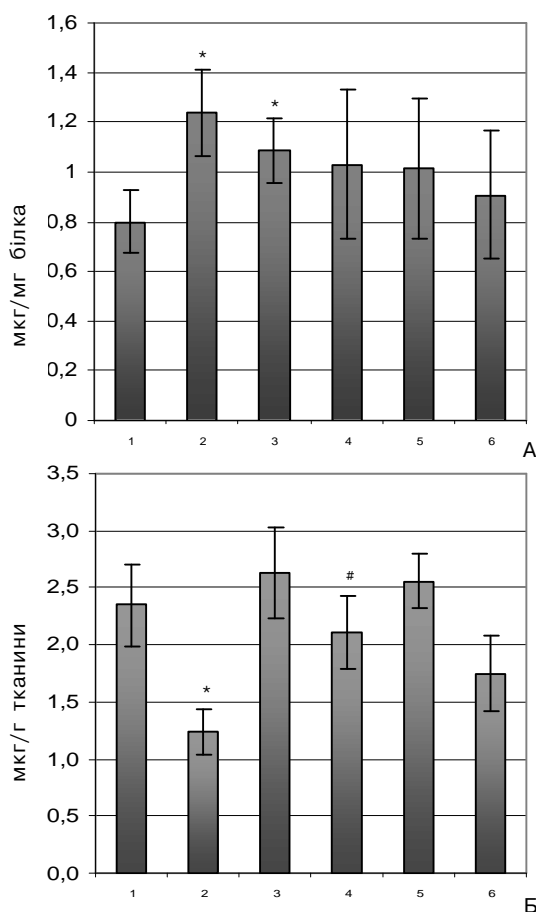


Рис. 4. Вміст серотоніну в сироватці крові (А) та мозку (Б): 1 – у контрольній групі тварин; 2 – у щурів з ЦД 2 типу; 3 – у контрольній групі тварин після 7 днів введення mCPP; 4 – у групі щурів з ЦД 2 типу після 7 днів введення mCPP; 5 – у контрольній групі тварин після 14 днів введення mCPP; 6 – у групі щурів з ЦД 2 типу після 14 днів введення mCPP.

Примітка. * – $p \leq 0,05$ порівняно з даними контрольної групи; # – $p \leq 0,05$ порівняно з даними групи тварин з ЦД 2 типу.

стерігали у тварин контрольної групи. Крім того, відомо, що діабетичні тварини мають значно більший вміст серотоніну в ШКТ [16].

Таким чином, підвищення вмісту периферичного серотоніну в щурів з ЦД 2 типу може

бути викликане гіперфункцією enteroхроматинних клітин ШКТ у діабетичних тварин та/або порушенням функціонування судинно-тромбоцитарної ланки системи гемостазу. Дисбаланс у системі гемостазу пов'язаний з гіперфункцією тромбоцитів, що зумовлена патогенетичними особливостями перебігу ЦД 2 типу. Зважаючи на те, що тромбоцити є місцем зберігання і транспортування периферичного серотоніну, це може бути причиною підвищення його вмісту в сироватці крові.

Зниження синтезу серотоніну, підсилення його зв'язування з рецепторами й підвищення ефективності його зворотного захоплення, імовірно, є причинами зниження вмісту серотоніну в тканинах мозку при ЦД 2 типу. Збільшення вмісту серотоніну в мозку тварин після введення mCPP можна пояснити взаємодією препарату із серотоніновими транспортерами, що стимулює викид серотоніну із цитоплазми нейрона в синаптичну щілину.

Результати проведених нами досліджень свідчать про вплив m-хлорофенілпіперазину на вміст серотоніну в мозку щурів з експериментальним ЦД 2 типу. Даний препарат посилює вивільнення серотоніну через транспортери, пригнічує зворотне захоплення серотоніну, що покращує серотонінергічну передачу імпульсів до центрів гіпоталамуса. Це призводить до зміни харчової поведінки й змушує тварин споживати більшу кількість їжі, виходячи не з потреб основного обміну, а з необхідності стимулювати серотонінергічну систему ЦНС.

ВИСНОВОК. Показана нормалізація вмісту глюкози після введення mCPP підтверджує взаємозв'язок між функціонуванням серотонінергічної системи та вмістом глюкози в крові. Зважаючи на це, перспективними є більш поглиблені дослідження причинно-наслідкових зв'язків серотонінергічної системи та вуглеводного обміну при ЦД 2 типу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Максименко Е. Г. Уровень триптофана и серотонина в условиях судорожной активности головного мозга / Е. Г. Максименко, В. Н. Савченко // Вісник Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна. Медицина. – 2000. – **1**, № 494. – С. 40–43.
2. Baumann M. H. Auerbach Intravenous administration of the serotonin agonist m-chlorophenylpiperazine (mCPP) increases extracellular serotonin in the diencephalon of awake rats / M. H. Baumann, J. J. Rutter // Neuropharmacology. – 1993. – **32**, № 12. – P. 1381–1386.

3. Bradford M. M. // *Analyt. Biochem.* – 1976. – **72**. – P. 248–254.
4. m-Chlorophenylpiperazine (mCPP) is an antagonist at the cloned human 5-HT_{2B} receptor / D. R. Thomas, T. L. Gager, V. Holland [et al.] // *Neuroreport*. – 1996. – **7**. – P. 1457–1460.
5. Effects of mCPP on the extracellular concentrations of serotonin and dopamine in rat brain / E. Eriksson, G. Engberg, O. Bing, H. Nissbrandt // *Neuropsychopharmacology*. – 1999. – **20**. – P. 287–296.
6. Hamik A. 1-(m-chlorophenyl)piperazine (mCPP) interactions with neurotransmitter receptors in the human

brain / A. Hamik, S. J. Peroutka // Biol. Psychiatry. – 1989. – **25**. – P. 569–575.

7. Hemmings S. J. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors / S. J. Hemmings, D. Spafford // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2000. – **32**. – P. 905–919.

8. Kahn R. S. m-Chlorophenylpiperazine as a probe of serotonin function / R. S. Kahn, S. Wetzler // Biol. Psychiatry. – 1991. – **30**, № 11. – P. 1139.

9. Kang Y. M. Serotonin modulates hypothalamic neuronal activity // Int. J. Neurosci. – 2004. – **114**, № 3. – P. 299–319.

10. Lam D. D. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes / D. D. Lam, L. L. Heisler // Cambridge University Press. – 2007. – **9**. – P. 5.

11. Lucki I. Effect of 1-(m-chlorophenyl)piperazine and 1-(m-trifluoromethylphenyl) piperazine on locomotor activity / I. Lucki, H. R. Ward, A. Frazer // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1989. – **249**, № 1. – P. 155–164.

12. Pettibone D. J. Serotonin-releasing effects of substituted piperazines in vitro / D. J. Pettibone, M. Williams // Biochem. Pharmacol. – 1984. – **33**, № 9. – P. 1531–1535.

13. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of oral and intravenous meta-chlorophenylpiperazine in healthy volunteers / H. J. Gijssman, J. M. Van Gerven, M. C. Tieleman [et al.] // J. Clin. Psychopharmacology. – 1998. – **18**. – P. 289–295.

14. p-Methylthioamphetamine and 1-(m-chlorophenyl)piperazine, two non-neurotoxic 5-HT releasers in vivo, differ from neurotoxic amphetamines derivatives in their mode of action at 5-HT nerve endings in vitro / M. Gobbi, M. Moia, L. Pirroni [et al.] // J. Neurochem. – 2002. – **82**. – P. 1435–1443.

15. Sakowski S. A. Differential tissue distribution of tryptophan hydroxylase isoforms 1 and 2 as revealed with monospecific antibodies / S. A. Sakowski // Brain Res. – 2006. – **1085** (1) – P. 11–18.

16. Serotonin-producing enterochromaffin (EC) cells of gastrointestinal mucosa in dexamethasone-treated rats / R. Glisic, V. Koko, V. Todorovic [et al.] // Regul. Pept. – 2006. – P. 30–39.

17. The rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycometabolism characters / F. Zhang, C. Ye, G. Li [et al.] // Exp. Anim. – 2003. – **52**, № 5. – P. 401–407.

18. Walther D. J. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform / D. J. Walther // Science. – 2003. – P. 76.

В. В. Конопельнюк, К. Р. Середницька, А. Н. Савчук, Л. І. Остапченко
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

ВЛИЯНИЕ m-ХЛОРОФЕНИЛПИПЕРАЗИНА НА СОДЕРЖАНИЕ СЕРТОНИНА В МОЗГЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

Резюме

Исследовано влияние m-хлорофенилпиперазина (mCPP) на содержание серотонина в мозге и сыворотке крови крыс в условиях экспериментального сахарного диабета (СД) 2 типа. При введении mCPP, на фоне роста содержания серотонина в мозге, установлено значительное снижение содержания глюкозы в крови. Полученные результаты свидетельствуют о возможной нормализации углеводного обмена у крыс с СД 2 типа и прямом влиянии серотонинэргической системы на инсулярный аппарат.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серотонин, глюкоза, m-хлорофенилпиперазин, сахарный диабет 2 типа.

V. V. Konopelnyuk, K. R. Serednytska, O. M. Savchuk, L. I. Ostapchenko
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

THE EFFECT OF m-CHLOROPHENYLPIPERAZINE ON THE CONTENT OF SEROTONIN IN BRAIN AND BLOOD SERUM OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS OF TYPE 2

Summary

The effect of meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) on the content of serotonin was examined in brain and blood serum of rats under the conditions of experimental diabetes mellitus (DM) of type 2. The present study showed significant decrease of glucose content in serum and increasing of serotonin content in brain during mCPP introduction in rats. The results testify to the normalization of metabolism of carbohydrates in rats with diabetes mellitus of type 2 and the direct effect of serotoninergic system on the insulin mechanism.

KEY WORDS: serotonin, glucose, meta-chlorophenylpiperazine, type 2 diabetes mellitus of type 2.

Отримано 22.03.11

Адреса для листування: В. В. Конопельнюк, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Васильківська, 94, Київ, Україна.